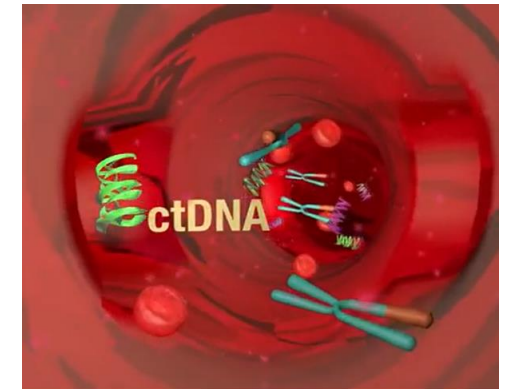
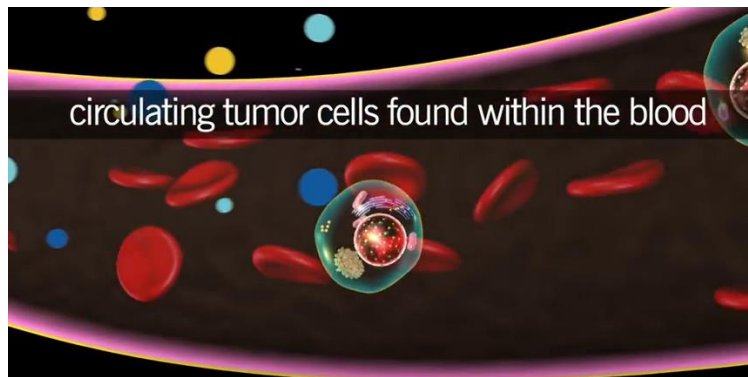


BIOPSIA LÍQUIDA

ONCOLOGÍA TRASLACIONAL

BILBAO 14 MARZO 2019

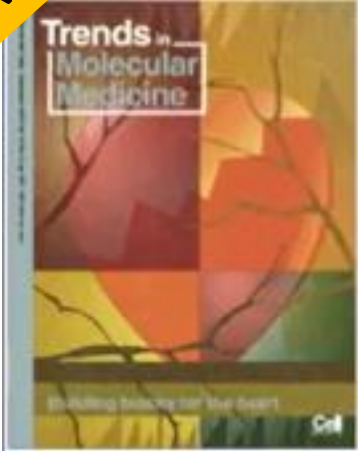


MARÍA JOSÉ VILLANUEVA
SERVICIO ONCOLOGÍA MÉDICA
H. ÁLVARO CUNQUEIRO
COMPL. HOSP. UNIVERSITARIO DE VIGO

SIN CONFLICTO DE INTERESES RELACIONADOS CON EL CONTENIDO DE LA PRESENTACIÓN

BIOPSIA LÍQUIDA: DEFINICIÓN Y CONCEPTO

REVIEW



TÉRMINO ACUÑADO EN 2010

CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES EN SANGRE DE TUMORES SÓLIDOS

Pantel K, Alix-Panabières C. Trends Mol Med. **2010**; 16: 398-406

More than 100 years ago, scientists discovered that tumors shed molecules and cells into bodily fluids.

Ashworth TR Aust Med J. 1869; 14:146–149

Descritas en **1869**

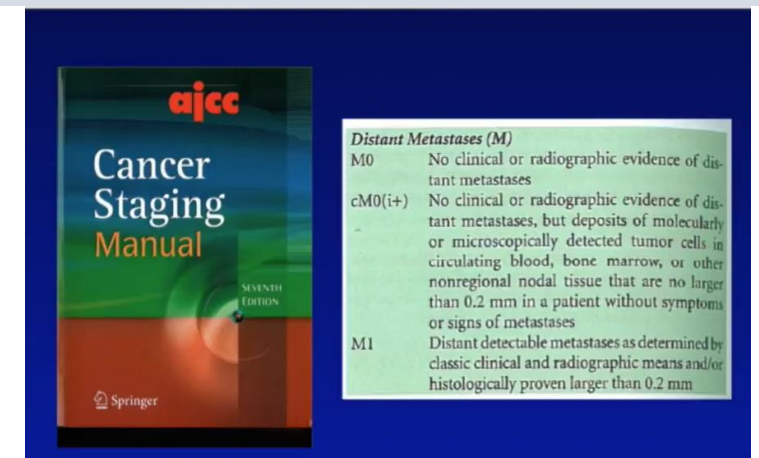
MÉTODO DETECCIÓN Y SEPARACIÓN

MARCADORES SUPERFICIE
MICROFLUIDOS

Daniel A. Haber and Victor E. Velculescu
Cancer discovery 2014

RECuento

TNM 2010: CTC incluidas nueva clasificación cM0(i+)



BIOPSIA LÍQUIDA: EXTENSIÓN CONCEPTO (1)

DETERMINAR PERFIL MOLECULAR TUMORAL

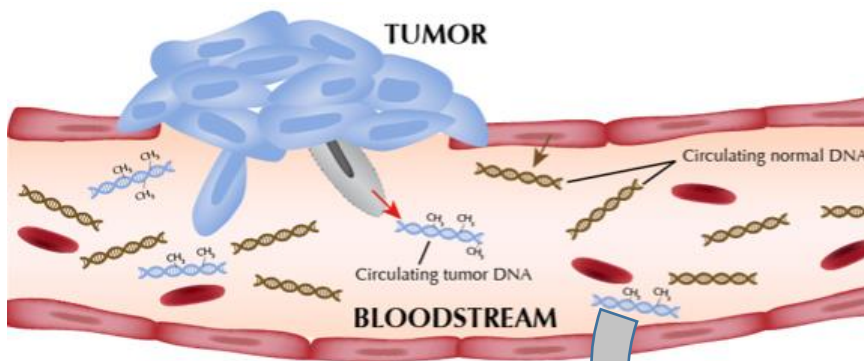
A PARTIR DE

BIOMARCADORES CIRCULANTES

PRODUCTOS CELULARES (APOPTOSIS O NECROSIS/CÉLULAS VIVAS)

ADN TUMORAL CIRCULANTE

Leon SA. Cancer Res. **1977**; 37:646–50.



Huntsman Cancer Institute, University of Utah

ctDNA → diferente del ADN LIBRE EN PLASMA cfDNA
(células inflamatorias/normales en división)

Mandel P. C R Seances Soc Biol Fil. **1948**; 142:241–243

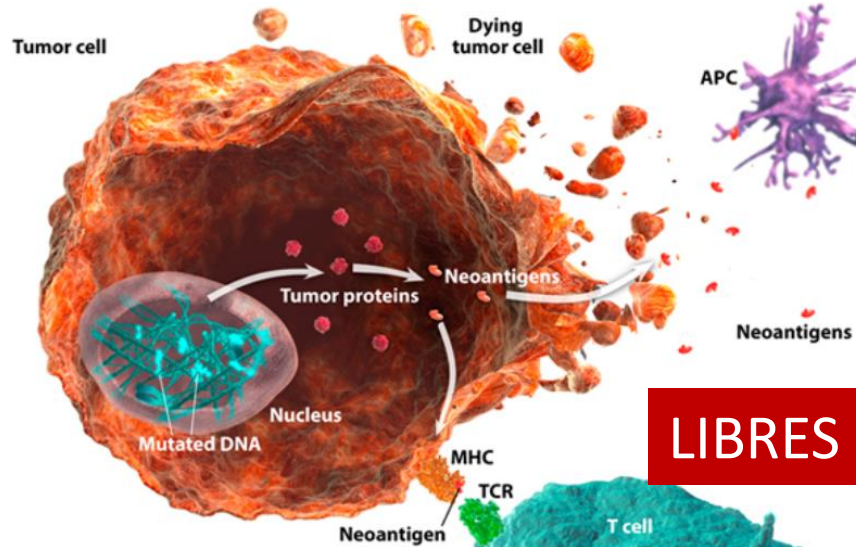
- < 1% ADN circulante (nanogramos/ml)
- CORRELACIÓN CON **CARGA TUMORAL**
- MUY **FRAGMENTADO** (50-200pb)
- VIDA MEDIA = 2 HORAS
- **MUTACIONES, TRANSLOCACIONES, AMPLIFICACIONES/DELECCIONES, ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS**

Haber DA, Velculescu VE. Blood-based analyses of cancer: circulating tumor cells and circulating tumor DNA. Cancer Discov. 2014;4(6):650-661.

BIOPSIA LÍQUIDA: NUEVOS CONCEPTOS

De Rubis G et al Trends Pharmacol Sci. 2019 Feb 5. pii: S0165-6147(19)30017-3

DIFERENTES TESTS → DIFERENTES TIPOS MATERIAL TUMORAL



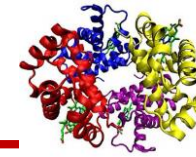
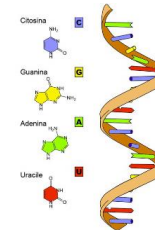
ctADN



ARN: miRNA, snRNA, snoRNA, piRNA, YRNA, lncRNA y circRNA

Wang et al. Genes (Basel). 2017 Dec; 8(12): 366

Vo JN et al. The Landscape of Circular RNA in Cancer Cell. 2019;176:869-881



PROTEÍNAS

PROTEÓMICA/MARCADORES TUMORALES

LIBRES

<https://www.immunooncologyhcp.bmsinformation.com/biomarkers/cancer-ant>



CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES

DNA, RNA, PROT.

Mader S et al. Liquid Biopsy: Current Status and Future Perspectives. Oncol Res Treat 2017;40:404-408.

ORGÁNULOS

VESÍCULAS EXTRACELULARES (**EXOSOMAS**: MICROLISOSOMAS): RNA, PROT.

Hannafon et al Int J Mol Sci 2013; 14: 14240–14269

PLAQUETAS CON INFORMACIÓN TUMORAL

TEP



RNA

BEST et al. CANCER CELL 2015; 28: 666-676

AVANCES EN BIOPSIA LÍQUIDA

AVANCE TECNOLÓGICO

PROMOVIDO



TERAPIAS DIRIGIDAS

MEJORÍA DETECCIÓN

→ → medición precisa biomarcadores críticos

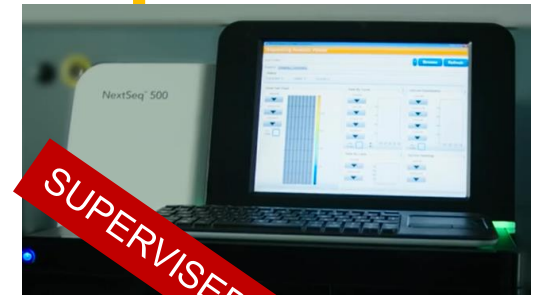
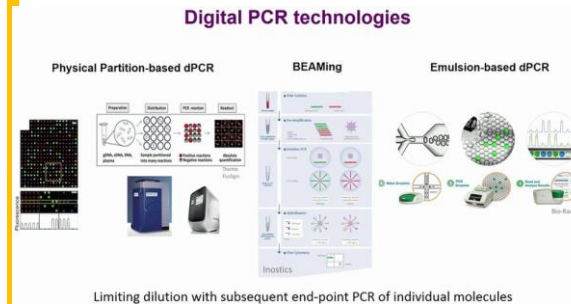
PCR DIGITAL: RTqPCR; ddPCR; Metilation PCR; BEAMing PCR, ARMS-PCR (RNA)

FISH

NGS: Next Generation Sequencing
(**EXOME** sequencing and **WHOLE GENOME** sequencing)

NG-TAS: Next Generation-Targeted Amplicon Sequencing

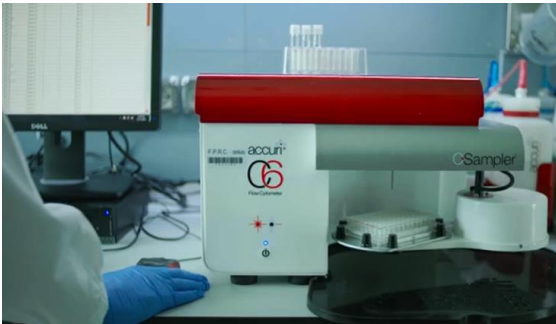
Gao M et al. Genome Medicine 2019; 11:1-14



SUPERVISED MACHINE LEARNING

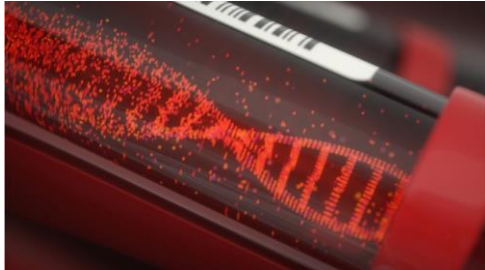
BIOINFORMÁTICA

ALMACENAMIENTO, PROCESADO, ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN DATOS



BIOPSIA LÍQUIDA: OTROS MEDIOS LÍQUIDOS

SANGRE: BLOOD-BASED

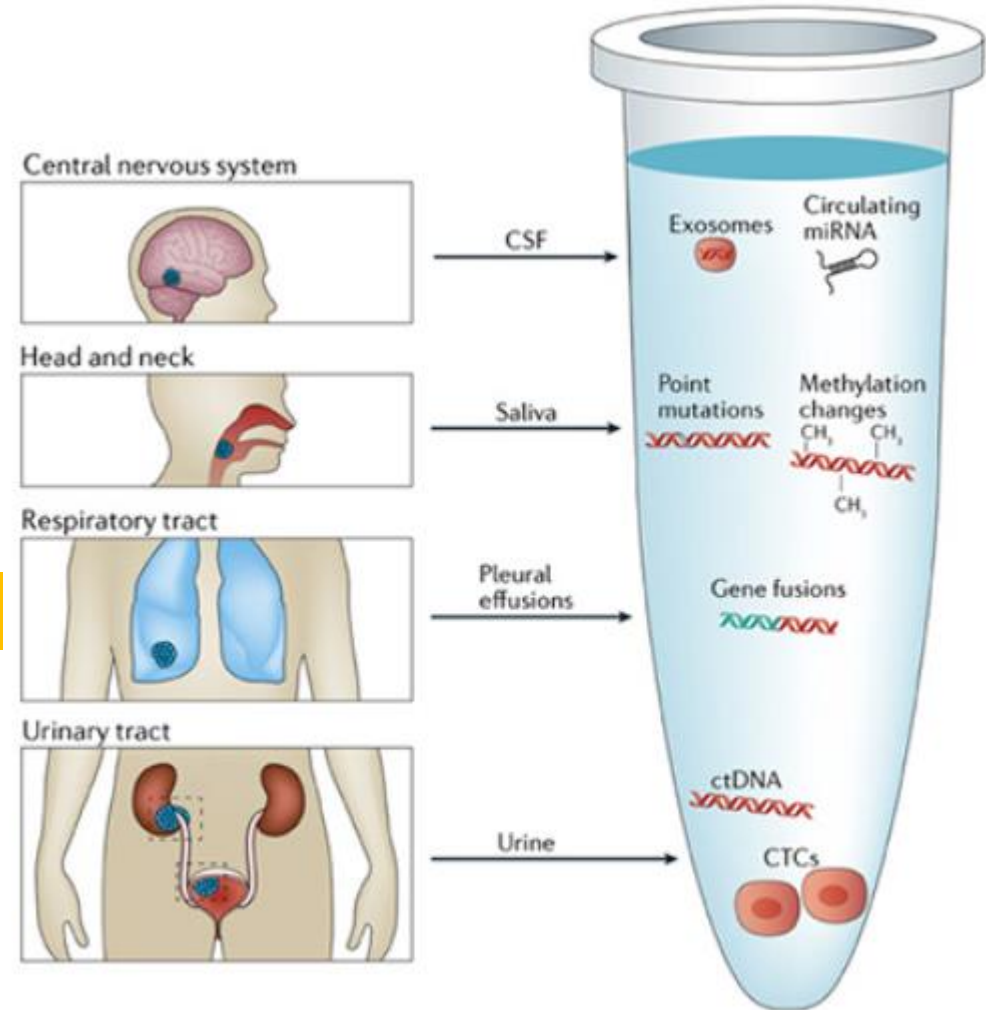


LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO

SALIVA

DERRAMES: PLEURAL, ASCITIS

ORINA



Nature Reviews | Clinical Oncology

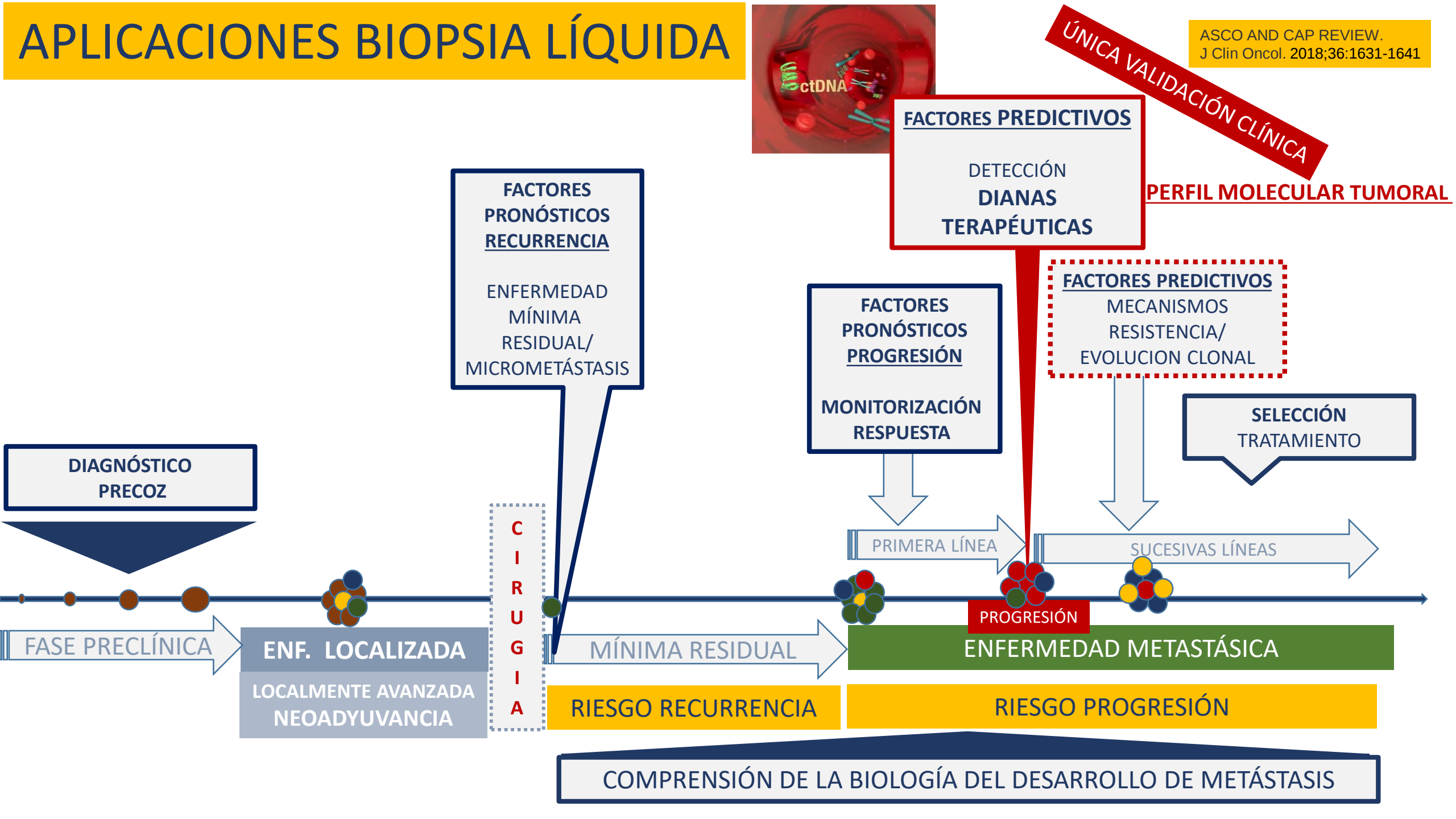
APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA



ÚNICA VALIDACIÓN CLÍNICA

ASCO AND CAP REVIEW.
J Clin Oncol. 2018;36:1631-1641

PERFIL MOLECULAR TUMORAL



APLICACIÓN CLÍNICA ACTUAL BIOPSIA LÍQUIDA

VOLUME 36 • NUMBER 16 • JUNE 1, 2018

JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY

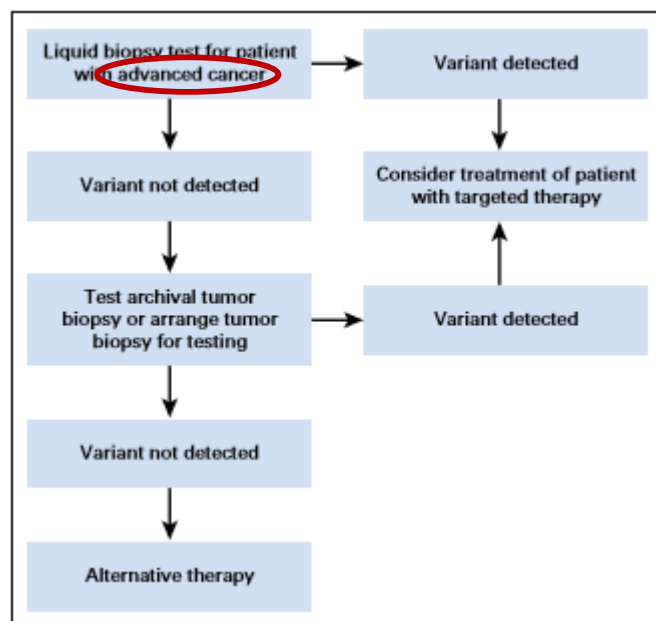
ASCO SPECIAL ARTICLE

Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review.

J Clin Oncol. 2018;36:1631-1641

Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review

Jason D. Merker, Geoffrey R. Oxnard, Carolyn Compton, Maximilian Diehn, Patricia Hurley, Alexander J. Lazar, Neal Lindeman, Christina M. Lockwood, Alex J. Rai, Richard L. Schilsky, Apostolia M. Tsimberidou, Patricia Vasalos, Brooke L. Billman, Thomas K. Oliver, Suanna S. Bruinooge, Daniel F. Hayes, and Nicholas C. Turner



CONSIDERACIONES PREANALÍTICAS Y ANALÍTICAS

LAS MUESTRAS DEBEN TOMARSE A LA **PROGRESIÓN** PARA GENOTIPADO TUMORAL

CONSIDERAR BIOPSIA DE TEJIDO PARA CONFIRMACIÓN DE RESULTADOS NEGATIVOS

ÚNICA VALIDACIÓN CLÍNICA

FACTORES PREDICTIVOS

DETECCIÓN
DIANAS
TERAPÉUTICAS

PERFIL MOLECULAR TUMORAL

APLICACIÓN BIOPSIA LÍQUIDA VALIDADA



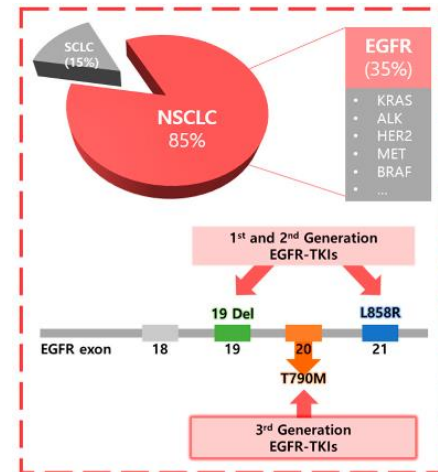
APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: PERFIL MOLECULAR

DETECCIÓN DIANAS TERAPÉUTICAS

FACTORES PREDICTIVOS
DETECCIÓN
DIANAS
TERAPÉUTICAS

CÁNCER PULMÓN NO CÉLULA PEQUEÑA

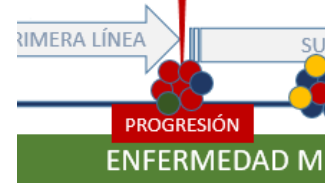
EJEMPLIFICA MEDICINA PRECISIÓN



EGFR

TTO EGFR-TKI 3º GENERACIÓN

Cobas® EGFR Mutation



CÁNCER MAMA



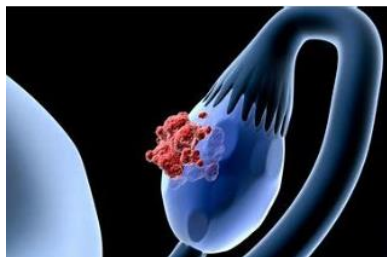
PI3KCA

TTO INHIBIDOR SELECTIVO PI3K α

André F et al. LBA3_PR - Alpelisib (ALP) + fulvestrant (FUL) for advanced breast cancer (ABC): results of the Phase 3 SOLAR-1 trial. ESMO 2018

CÁNCER OVARIO

INHIBIDORES PARP



BRCA

Ratajska M et al. Detection of BRCA 1/2 mutations in circulating tumor DNA from patients with ovarian cancer. Oncotarget 2017; 5:101325-101332

TUMORES MSI-H/ dMMR

INMUNOTERAPIA

Blood-Based Microsatellite Instability (MSI) Biomarker Testing for Multiple Cancers

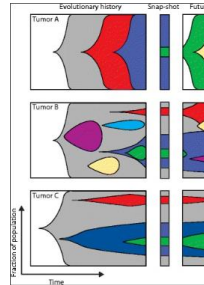
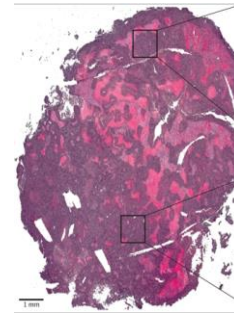
PERFIL MOLECULAR A LA PROGRESIÓN

VENTAJAS BIOPSIA LÍQUIDA/BIOPSIA INCISIONAL TEJIDO

NO INVASIVA

HETEROGENEIDAD TUMORAL

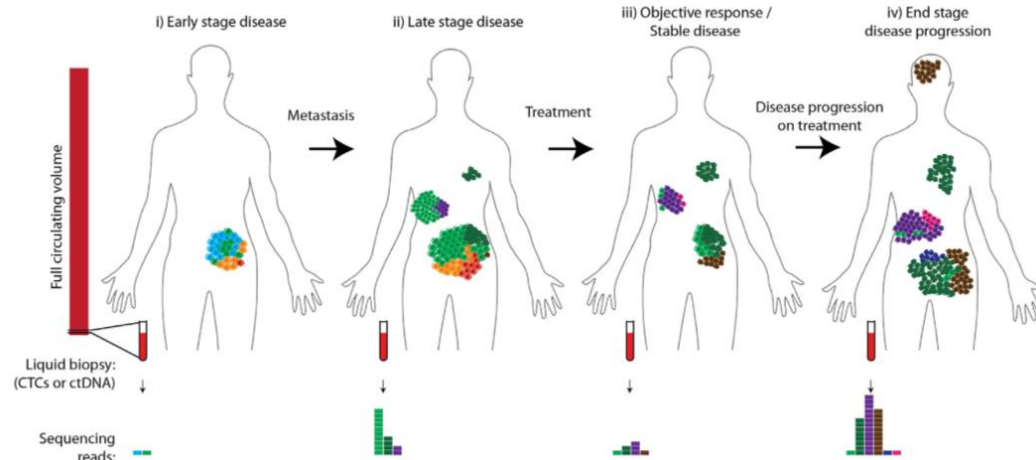
ESPACIAL → DE DISTINTOS FOCOS



PLASMA Y TEJIDO CON NGS

HILEY et al. Deciphering intratumor heterogeneity and temporal acquisition of driver events to refine precision medicine. GENOME BIOL 2014; 15: 453

TEMPORAL → CAMBIOS EVOLUTIVOS



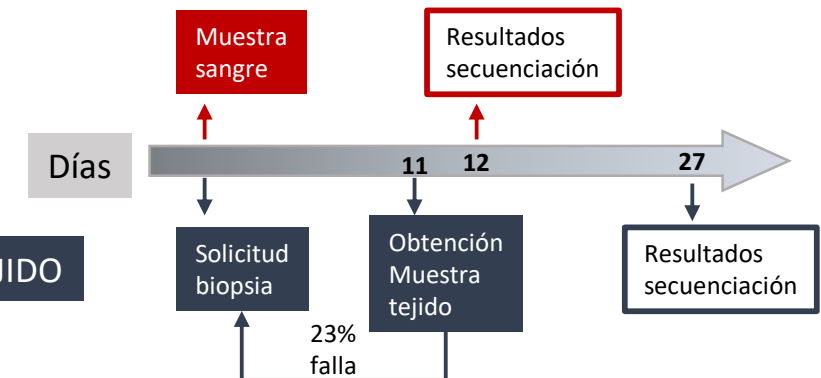
BURRELL RA, SWANTON C. Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance. Mol Oncol. 2014; 8:1095-1111

PLAZOS: ctDNA VS TEJIDO

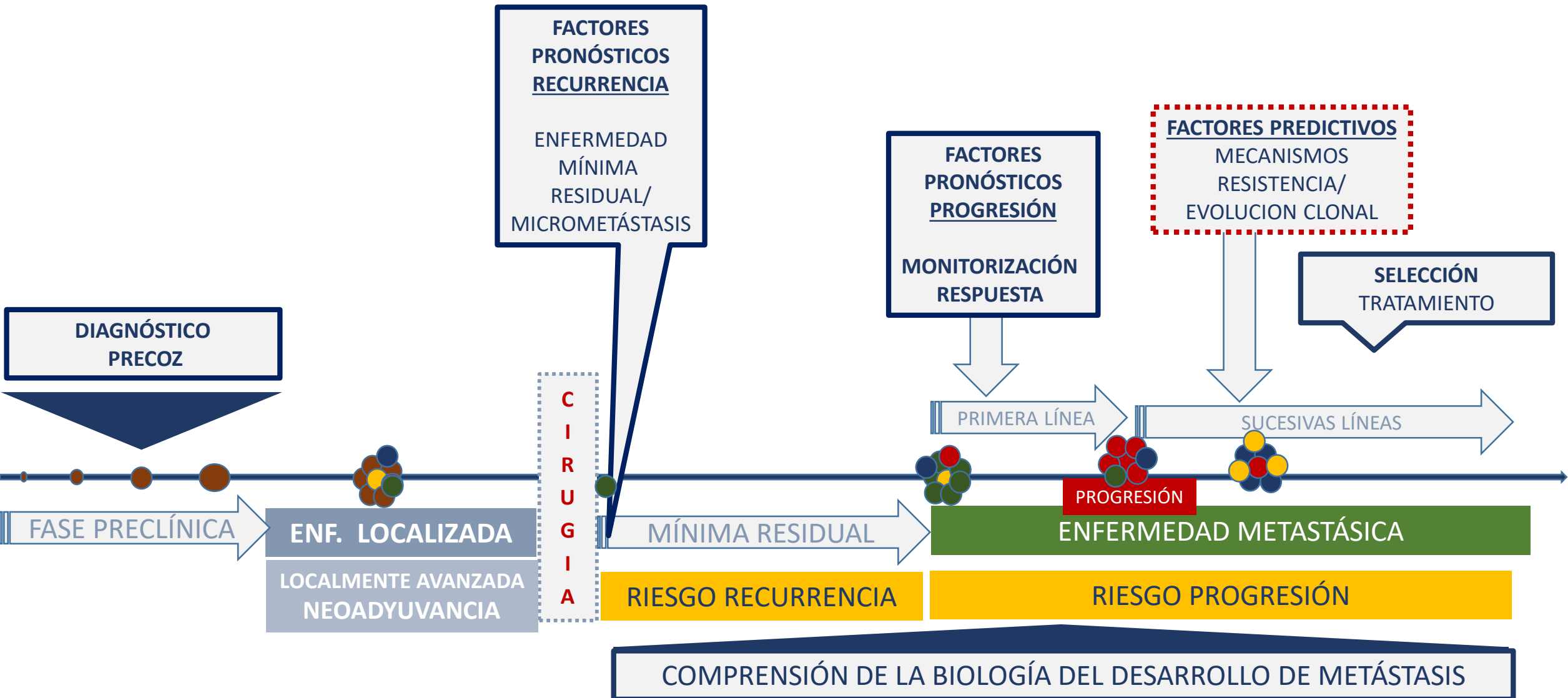
Schwaederlé et al. The Oncologist 2014; 19:631-636
Meric-Bernstam et al. J Clin Oncol. 2015;33: 2753-2762
Sundaresan et al. Clin Cancer Res. 2016;22:1103-1110
Kim et al. Oncotarget 2015; 24: 40360-40369
Schwaederlé et al. Oncotarget 2016 7:9707-9717

ctDNA

BIOPSIA TEJIDO



APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA EN ESTUDIO



APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: DIAGNÓSTICO PRECOZ



DETECCIÓN PRIMARIOS

- INDIVIDUOS **ALTO RIESGO**
(HEREDITARIO Y NO HEREDITARIO)
- POBLACIÓN GENERAL

POSIBLES CAMPOS DE APLICACIÓN

DETECCIÓN SEGUNDOS PRIMARIOS

ÓRGANOS PARES/OTRAS LOCALIZACIONES



DETECCIÓN RECURRENCIA

PACIENTES ALTO RIESGO

Cohen J. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* **2018**; 359: 926-930

EJEMPLOS

MÚLTIPLES ENSAYOS GRAN DIVERSIDAD TUMORES

EBV CÁNCER NASOFARÍNGEO en ctDNA

Chan et al. Analysis of Plasma Epstein–Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer. *N Engl J Med* 2017; 377:513-522

POBLACIÓN HONG-KONG

LONG NONCODING RNAS

Miranda-Castro R et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2019; 1-11

METILACIÓN

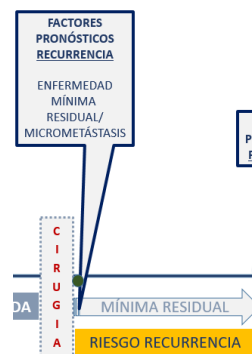
Shen et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes. *Nature* 2018; 563: 579-583.

A TENER EN CUENTA HISTORIA
MARCADORES TUMORALES
DIAGNÓSTICO PRECOZ EN
INTERPRETACIÓN RESULTADOS

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: ENF. MÍNIMA RESIDUAL

PREDICCIÓN DE RECURRENCIA

TRAS NEOADYUVANCIA/CIRUGÍA ONCOLÓGICA



**CTC ASOCIADAS A PRONÓSTICO DESFAVORABLE
ESTADIO PRECOZ**

C. MAMA

Rack et al JNCI 2014

C. VEJIGA

Rink et al Eur Urol 2012; Giavazzi et al Int J Cancer 2014

C. CABEZA Y CUELLO

Grobe et al. CCR 2014

TUMORES GERMINALES

Nastaly et al. CCR 2014

C. COLON

Yokobori et al. Cancer Res. 2013

PACIENTES ALTO RIESGO

DETERMINACIÓN :

- CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES
- ctDNA

VALORACIÓN TTO ADYUVANTE
EN ENF. MINIMA RESIDUAL

EJEMPLOS

CCT C. MAMA

C
I
R
U
G
I
A

QT NEOADYUVANTE

POSCIRUGÍA

CTC IN GEPARQUATTRO TRIAL

CTC ANTES DE LA QT NEOAD INFORMACIÓN PRONÓSTICA
INDEPENDIENTE DE RESPUESTA PATOLÓGICA COMPLETA (pCR)

Riethdorf S et al. Clin C Research 2017 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0255

CCT C. PULMÓN

QT-RT

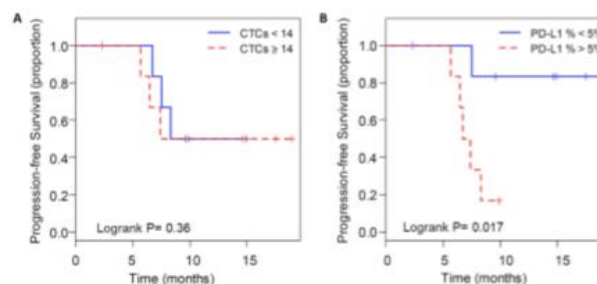
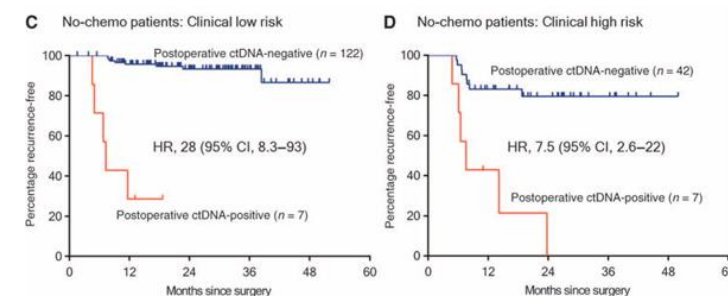


Figure 5. Kaplan-Meier life-table analysis of the PFS time in all patients. Grouping was done according to (A) CTC number more or less than 14/ml and (B) PD-L1 (+) CTC% more or less than 5%.

Wang Y et al. PD-L1 Expression in Circulating Tumor Cells Increases during Radio(chemo)therapy and Indicates Poor Prognosis in Non-small Cell Lung Cancer. Sci Rep 2019; 24: 566 DOI:10.1038/s41598-018-36096-7

ctDNA C. COLON

ADYUVANCIA



Tie J et al. Tie J et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. Sci Transl Med . 2016; 8: 346ra92

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: MONITORIZACIÓN

PREDICCIÓN DE PROGRESIÓN: CTC, ctDNA



MARCADOR PRONÓSTICO VALIDADO

ENF METASTÁSICA

SUBROGADO DE

- CARGA TUMORAL
- RENOVACIÓN CELULAR TUMORAL

PROS:

INFORMACION EFICACIA TRATAMIENTO →
EVITA TOXICIDAD EN AUSENCIA RESPUESTA

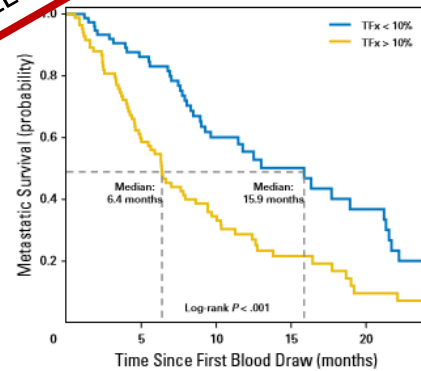
CONTRA:

NO INFORMA ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS

EJEMPLOS

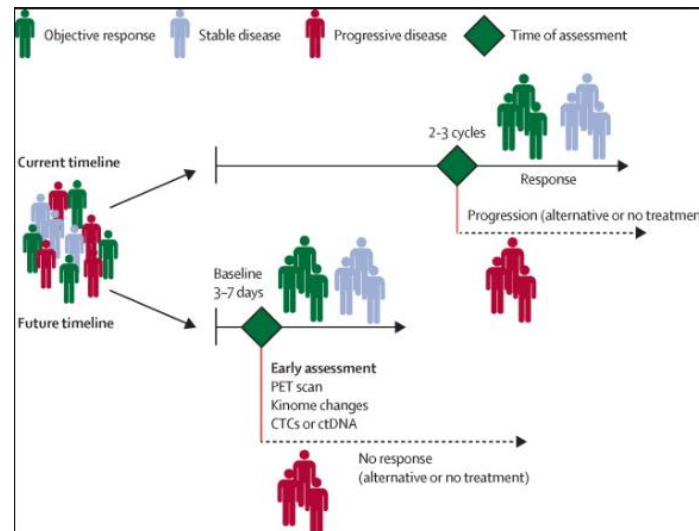
C MAMA
TRIPLE NEG

ctDNA



Fracción tumoral por WGS y pronóstico

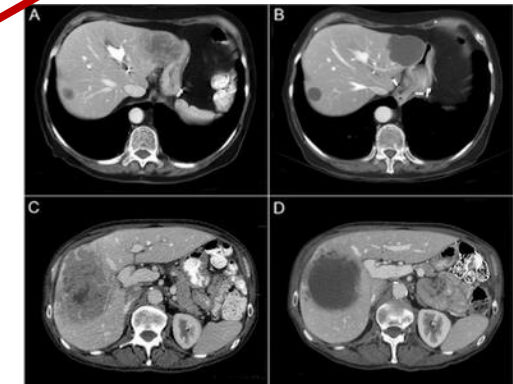
Stover D et al. JCO 2018; 36: 543-553



Wilson M et al. Outcomes and endpoints in cancer patients: bridging the divide. The lancet Oncology 2015; 16: Pe43-e52

C COLON

CTC



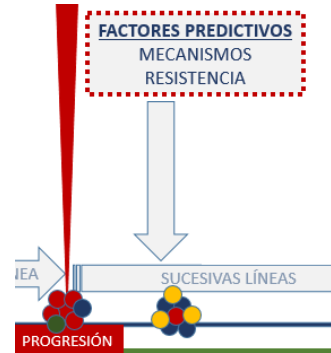
pCR

10%
células
viables

AYUDA CASOS DIFICULTAD MEDICIÓN RESPUESTA
lesiones no medibles, respuesta paradójica,
pseudoprogresión, lesiones quísticas.

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: RESISTENCIAS/EVOLUCIÓN CLONAL

DETECCIÓN DE RESISTENCIAS ADQUIRIDAS, NO DETECTADAS AL DIAGNÓSTICO

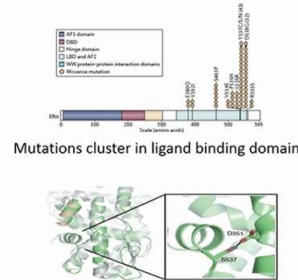


CÁNCER MAMA



ERS1

ESR1 mutations in advanced breast cancer



Zhang, Q.X. et al. *Cancer Res* 1997; Li, S. et al. *Cell Reports* 2013; Toy, W. et al. *Nat Gen* 2013; Robinson, D.R. et al. *Nat Gen* 2013; Merenbakh-Lamin, K. et al. *Cancer Res* 2013; Jeselsohn, R. et al. *Clin Cancer Res* 2014; Ma et al. *NRC* 2015

ESR1 mutations
Acquire through prior
aromatase inhibitor therapy
Result in ligand
independent growth

AI resistant cancer is genetically diverse



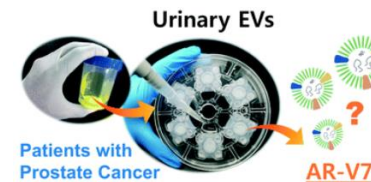
ESR1 mutations ~50% patients
KRAS mutations ~10% patients
FGFR mutation ~5% patients
NF1 mutations 5-10% patients

Fribbens et al. Tracking evolution of aromatase inhibitor resistance with circulating tumor DNA analysis in metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2018; 29: 145-153

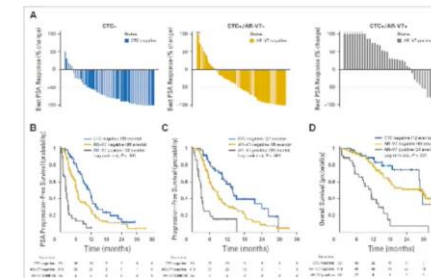
CÁNCER PRÓSTATA



AR-V7



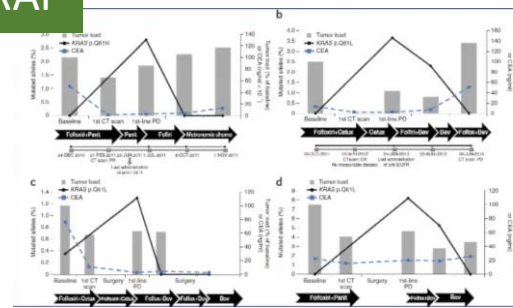
Clinical outcomes of prostate cancer patients starting treatment with abiraterone or enzalutamide according to CTC & ARv7 status



Antonarakis ES. Clinical significance of androgen receptor splice variant-7 mRNA detection in circulating tumor cells of men with metastatic castration-resistant prostate cancer treated with first and second-line abiraterone and enzalutamide *J Clin Oncol*. 2017; 35: 2149-2156

CÁNCER COLON

RAS/BRAF

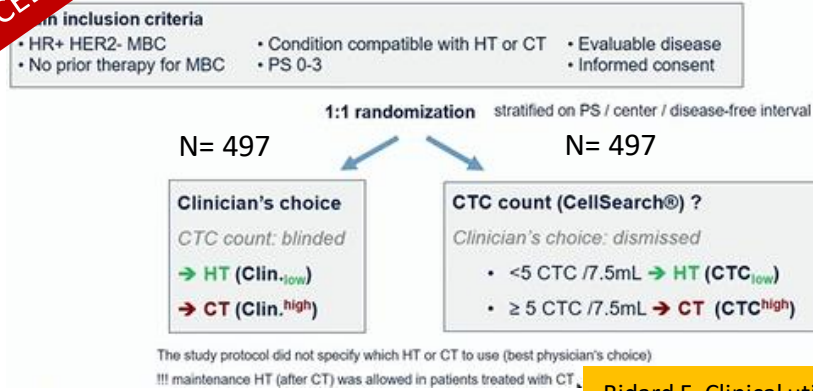


Siravegna G. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nature Medicine* 2015; 21: 795-801

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: SELECCIÓN TERAPÉUTICA

CIRCULATING TUMOR CELL BURDEN

STIC CTC METABREAST STUDY

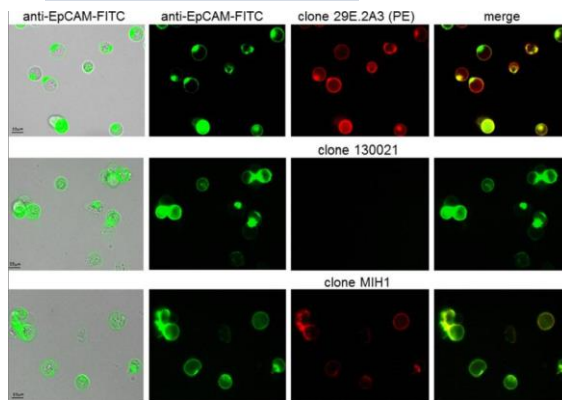


FASE III

Clin. _{low} / CTC _{low}	47.5%	46.5%	48.6%	← Concordant estimates: HT in both arms
Clin. _{low} / CTC _{high}	25.2%	26.1%	24.3%	← Discordant estimates: HT or CT
Clin. _{high} / CTC _{low}	13.8%	13.4%	14.0%	
Clin. _{high} / CTC _{high}	13.5%	13.9%	13.0%	← Concordant estimates: CT in both arms

Bidard F. Clinical utility of circulating tumor cell count as a tool to chose between first line hormone therapy and chemotherapy for ER+ HER2- metastatic breast cancer: Results of the phase III STIC CTC trial. SABCS 2018

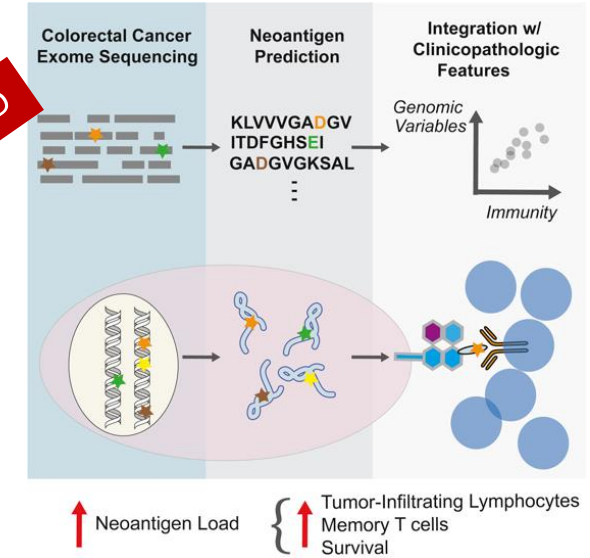
C PULMÓN NSCLC



PDL-1 CÉLULAS CIRCULANTES

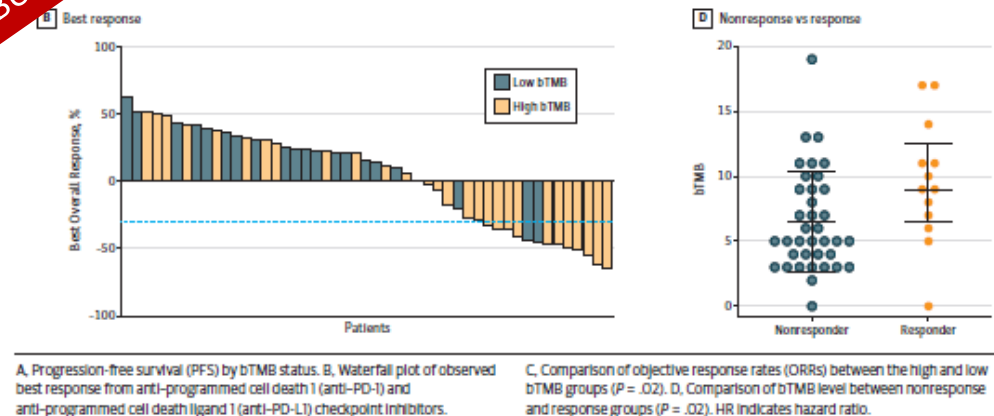
Schott D. et al. Sensitive detection of PD-L1 expression on circulating epithelial tumor cells (CETCs) could be a potential biomarker to select patients for treatment with PD-1/PD-L1 inhibitors in early and metastatic solid tumors. Oncotarget 2017; 22: 72755-72772

NEOANTIGEN LOAD



Giannakis M et al. Genomic Correlates of Immune-Cell Infiltrates in Colorectal Carcinoma. Cell Reports 2016; 15: 857-865.

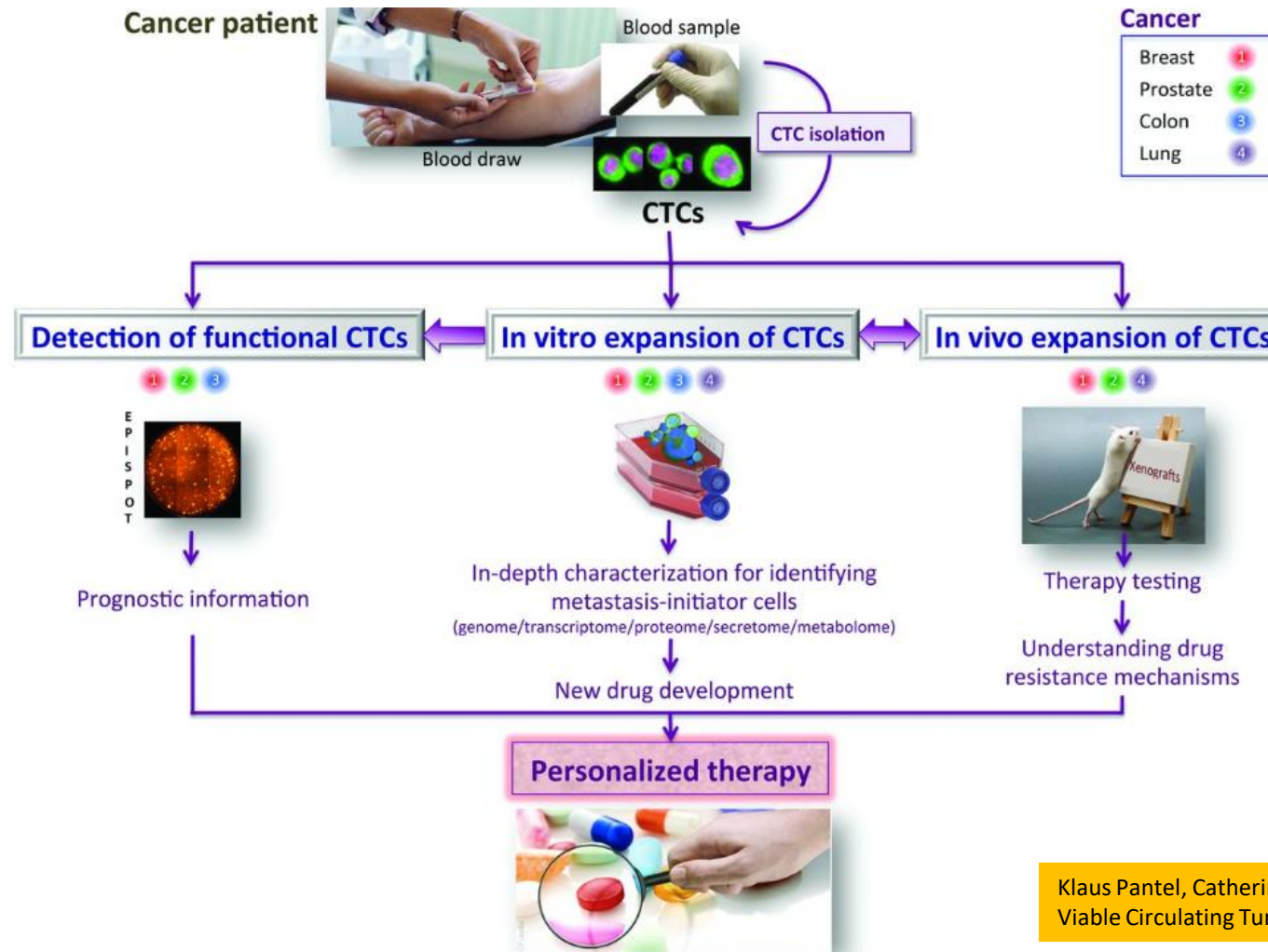
TUMOR MUTATIONAL BURDEN



Wang Z et al. Assessment of Blood Tumor Mutational Burden as a Potential Biomarker for Immunotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer With Use of a Next-Generation Sequencing Cancer Gene Panel. JAMA Oncol. 2019 Feb 28

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: ESTUDIO BIOLOGÍA TUMORAL

CULTIVOS CELULARES

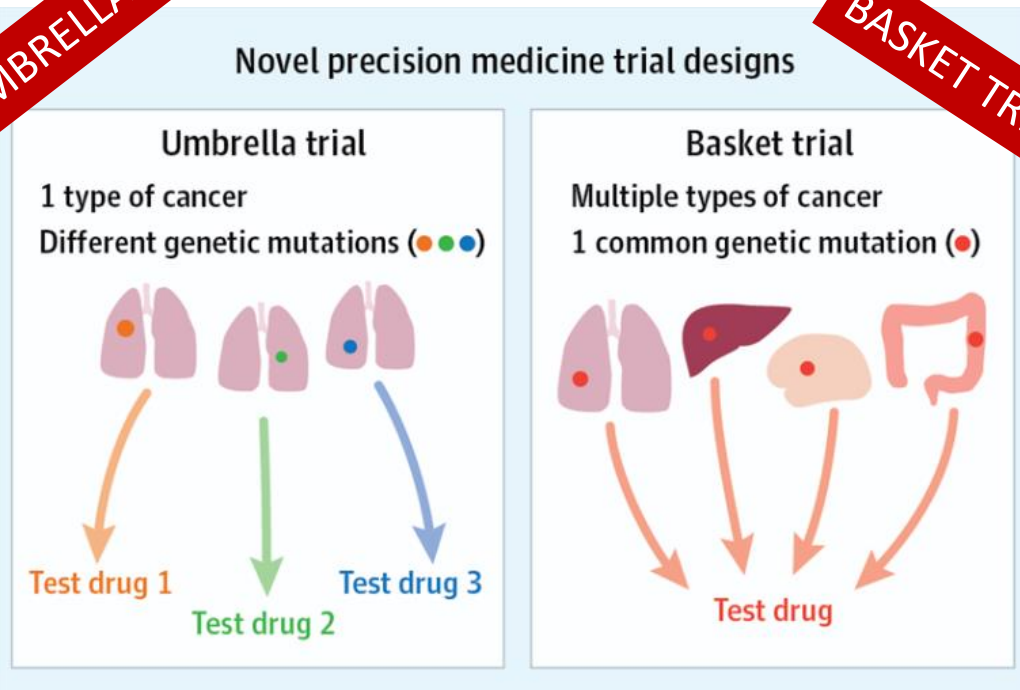


Klaus Pantel, Catherine Alix-Panabières. Functional Studies on Viable Circulating Tumor Cells. Clinical Chemistry 2016; 62: 328-334

APLICACIONES BIOPSIA LÍQUIDA: ENSAYOS CLÍNICOS

GENOMICALLY INFORMED TRIALS

UMBRELLA TRIAL



West H. Novel Precision Medicine Trial Designs
Umbrellas and Baskets. JAMA Oncol. 2017; 3 :423

BASKET TRIAL

N-of-1 TRIAL: LIQUID DYNAMIC MEDICINE

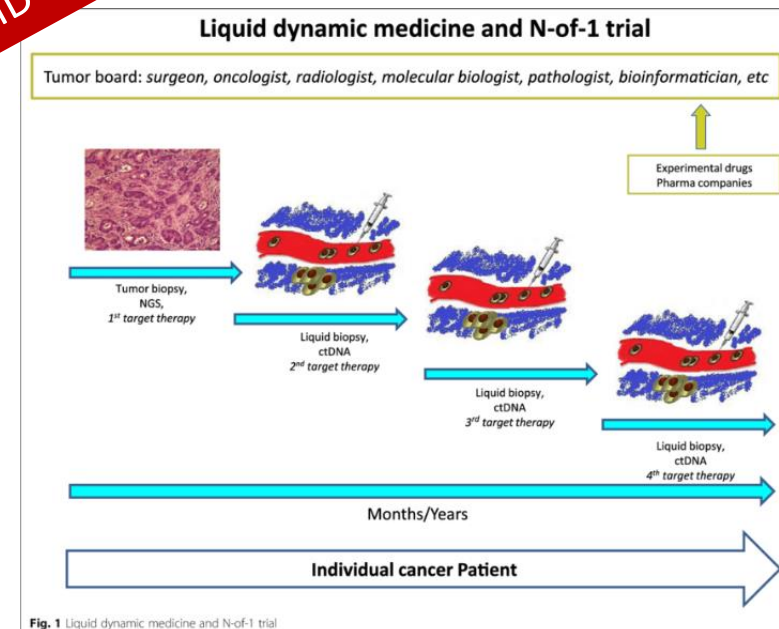


Fig. 1 Liquid dynamic medicine and N-of-1 trial

Silvestris N et al. Liquid dynamic medicine and N-of-1 clinical trials: A change of perspective in oncology research. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2017; 36: 128

LIMITACIONES DE LA BIOPSIA LÍQUIDA

VALIDEZ ANALÍTICA

MEJORÍA DRÁSTICA TECNOLÓGICA

FALTA CONOCIMIENTO

- DETERMINAR IMPACTO
- OPTIMIZAR UTILIZACION

MUCHOS CLÍNICOS POBRE CONOCIMIENTO GENÉTICA,
PREDICCIÓN DE RIESGO Y DE CONSEJO GENÉTICO

COMPLEJIDAD IDENTIFICACIÓN BIOMARCADORES

DRIVER MUTATION (DIRIGEN DEVENIR DEL TUMOR)
PASSENGER MUTATION (SIMPLES ESPECTADORAS)

- VARIABLES MISMO TIPO CÁNCER
- VARIABLES ENTRE DISTINTOS TIPOS

VALIDEZ CLÍNICA

ALGUNOS TUMORES → BIOMARCADORES /TESTS GENÉTICOS ESPECÍFICOS → DECISIONES TERAPÉUTICAS
TODOS LOS DEMÁS → LEJOS IMPLEMENTACIÓN CLÍNICA

REVISIÓN DE ASCO y CAP → RESULTADOS TESTS BIOPSIA
LÍQUIDA NO EXACTAMENTE IGUALES A BIOPSIA TEJIDO

TESTS

DETECCIÓN PRECOZ,
SELECCIÓN TERAPÉUTICA
MONITORIZACIÓN DE PROGRESIÓN ENFERMEDAD

DIFERENCIAS BIOLÓGICAS

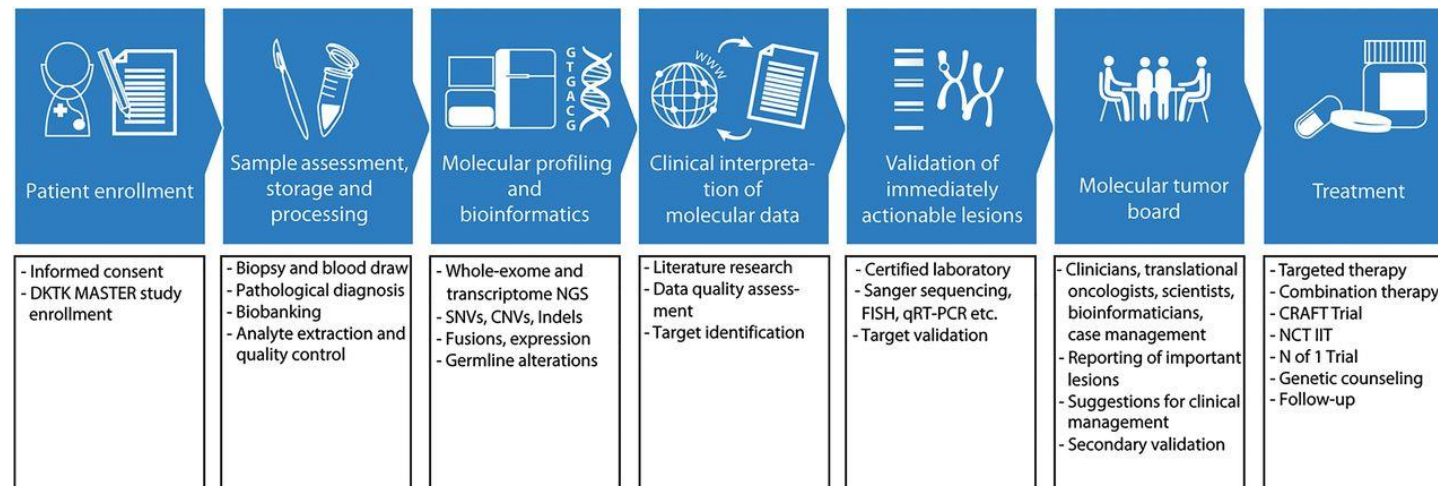
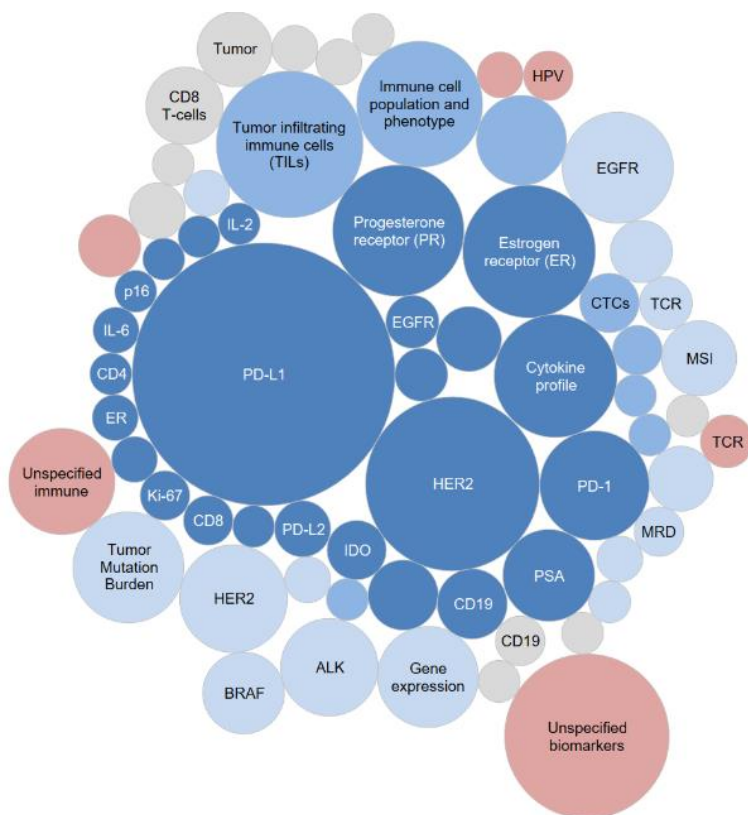
LIMITACIONES DE LOS TESTS

REPERCUSIÓN DESCONOCIDA EN

- SUPERVIVENCIA
- MEJORÍA CALIDAD DE VIDA

La ciencia traslacional, la comprensión de los datos obtenidos es mucho más compleja, requiere tiempo y paciencia

FUTURO DE LA BIOPSIA LÍQUIDA



Peter Horak et al. ESMO Open 2016;1:e000094

IDENTIFICACIÓN DIANA ADECUADA PARA CADA PACIENTE EN UN OCÉANO DE DATOS BIOLÓGICOS

PRIMERA FASE

TODOLARGOVIAJECOMIENZA POR EL PRIMER PASO

<https://www.decibio.com/2017/08/07/immuno-oncology-biomarkers/>



MUCHAS GRACIAS